

Возможности определения опухолевой сосудистой инвазии и ее роль в прогнозе операбельного немелкоклеточного рака легкого

ФГБУ "Ростовский научно-исследовательский онкологический институт" Минздрава России: 344037, Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63

S.A.Zin'kovich, E.M.Nepomnyashchaya, Yu.N.Lazutin, P.A.Anistratov, T.O.Lapteva, O.V.Tarnopol'skaya

Possibilities to detect vascular invasion and its prognostic role in patients with operable non-small cell lung carcinoma

Summary

Introduction. Vascular invasion in operable lung cancer is an important prognostic factor. Vascular invasion worsens prognosis even in absence of metastases and could require adjuvant chemotherapy.

The aims of this study were: 1) to investigate vascular invasion in surgical specimens of non-small cell lung carcinomas (NSCLC) using immunohistochemical detection of CD34⁺, actin, and cytokeratine expression; 2) to estimate prognostic values of these markers.

Methods. Surgical specimens were obtained from 60 patients with NSCLC T2N0M0 to T3N2M0 stages aged 51 to 73 years (88.3 % were males).

Results. Vascular invasion found in primary malignancy significantly worsened outcomes ($p = 0.0184$) and survival.

Conclusion. Vascular invasion is an important predictive factor in patients with malignancies including NSCLC. Immunohistochemistry allowed better detection this process. The most valuable marker is to be CD34⁺.

Key words: prognosis, vascular invasion, non-small cell lung carcinoma, immunohistochemical examination.

Резюме

Опухолевая инвазия сосудов при операбельном раке легкого является важным фактором прогноза. Даже при отсутствии метастатического поражения лимфатических узлов при сосудистой инвазии ухудшается прогноз, что может являться показанием для назначения адъювантной химиотерапии. Для выявления сосудистой инвазии наиболее эффективно проведение иммуногистохимического исследования с антителами CD34.

Ключевые слова: прогнозирование, опухолевая инвазия, немелкоклеточный рак легкого, иммуногистохимическое исследование.

Несмотря на некоторое снижение заболеваемости, доля рака легкого (РЛ) в структуре онкологической патологии населения в России по-прежнему занимает ведущее место, а каждый 3-й мужчина, умерший от рака в нашей стране — это больной РЛ [1].

Результаты хирургического лечения, остающегося основным методом при немелкоклеточном РЛ (НМРЛ), вряд ли можно считать удовлетворительными даже при I стадии опухолевого процесса [2, 3].

S.Garbor *et al.* [4] было продемонстрировано, что опухолевая инвазия в кровеносные сосуды является важным прогностическим фактором у пациентов с T13N0M0 стадиями НМРЛ.

В другом исследовании изучено влияние опухолевой сосудистой инвазии у пациентов с I или II стадией НМРЛ, которая была выявлена только у 14,4 % больных, у которых отмечена тенденция к ухудшению бессобытийной выживаемости [5]. Японскими учеными также показано, что общая выживаемость больных с IA стадией РЛ с опухолевой сосудистой инвазией была аналогичной у пациентов с IB стадией НМРЛ [6]. Установлена зависимость от микрососудистой инвазии [7].

В этой связи представляет интерес дальнейшее изучение опухолевой сосудистой инвазии, которая, наравне со стадией, может являться значимым прогностическим фактором для радикально прооперированных пациентов с НМРЛ.

Целью явилось исследование в образцах удаленной опухоли инвазии сосудов микроциркуляторного русла при НМРЛ путем иммуногистохимического (ИГХ) определения экспрессии маркеров: CD34⁺, мышечного актина, цитокератина и установление их прогностического значения.

Материалы и методы

Основу исследования составили данные о больных ($n = 60$; 53 (88,3 %) мужчины, 7 (11,7 %) женщин; средний возраст — 51–73 года) с IB–IIA стадиями НМРЛ, подвергавшихся радикальному лечению в торакальном отделении ФГБУ "РНИОИ" Минздрава России.

IB (T2N0M0) стадия рака установлена у 35 (58,3 %) пациентов; IIA (T1N1M0) — у 3 (5 %), IIB (T23N01M0) — у 16 (26,7 %), IIIA (T13N2M0) — у 6 (10 %).

Всем больным были проведены радикальные оперативные вмешательства: в 32 (53,3 %) случаях была выполнена лобэктомия, в 23 (38,3 %) — расширенная пневмонэктомия, в 5 (8,3 %) — сублобарная резекция; 20 больным была проведена интраоперационная химиоиммунотерапия. Части больных в послеоперационном периоде проводилось дополнительное противоопухолевое лечение: пациентам со II стадией НМРЛ — 2 курса, с IIIA стадией — 3 курса

Выявление инвазии опухоли в сосуды микроциркуляторного русла в зависимости от типа окраски

Инвазия	Окраска, n (%)			
	гематоксилин + эозин	CD34	цитокератин	мышечный актин
Есть	20 (33)	35 (58,3)	23 (38,3)	29 (48,3)
Нет	40 (66)	25 (41,7)	37 (61,7)	31 (51,6)

адьювантной химиотерапии по схеме СЕ (карбоплатин АУС = 6 в 1-й день + вепезид – 100 мг / м² в 1-й, 3-й и 5-й дни с интервалом 3 нед. между курсами), при плоскоклеточной карциноме – схема GC (гемцитабин – 1 200 мг / м² в 1-й и 8-й дни + карбоплатин АУС = 6 в 1-й день с интервалом 3 нед). Больным с IV стадией в послеоперационном периоде дополнительное лечение не проводилось.

У всех больных был верифицирован НМРЛ: плоскоклеточный – у 26 (43,3 %), аденокарцинома – у 34 (56,7 %) пациентов.

При морфологическом исследовании были изучены образцы опухолевой ткани, полученные от больных НМРЛ (*n* = 60). Препараты окрашивались гематоксилином и эозином, оценивались гистологический тип опухоли, степень ее дифференцировки, наличие или отсутствие метастазов в регионарные лимфатические узлы (ЛУ).

Особое внимание уделялось наличию инвазии в кровеносные сосуды и опухолевых тромбов в их просвете. Для определения наиболее эффективной морфологической методики оценки опухолевой инвазии в микроциркуляторное кровеносное русло, помимо стандартной окраски, выполнялось ИГХ-определение экспрессии антител против цитокератина (клон AE1 / AE3), CD34 Class II (клон QVEnd 10), мышечного актина (Actin Muscle Specific Ab-4 (клон HNF 35)).

Для установления прогностической значимости опухолевой сосудистой инвазии была изучена кумулятивная безрецидивная выживаемость (DFS) в зависимости только от этого показателя. Использовался метод Каплана–Майера и оценка посредством логарифмического рангового критерия (*long-rank test*).

Результаты

Показано, что с применением ИГХ-методик повышается выявляемость сосудистой инвазии с 33 % (при окраске гематоксилином и эозином) до 58,3 % – в результате окраски с использованием антител CD34 к зрелым эндотелиальным клеткам (табл. 1).

При использовании антител против мышечного актина, при помощи которого выявляются гладкомышечные клетки сосудистой стенки, инвазия выявлена у 48,3 % больных. Данное положение, вероятно, обусловлено малым калибром пораженных сосудов, у которых мышечная оболочка не выражена или отсутствует. Применение антител против цитокератинов незначительно увеличило выявление инвазии, но позволило в некоторых случаях однозначно трактовать тромб в просвете сосуда как опухолевый (рис. 1, 2). Таким образом, для выявления сосудистой инвазии наиболее эффективным оказалось проведение ИГХ-исследования с антителами CD34.

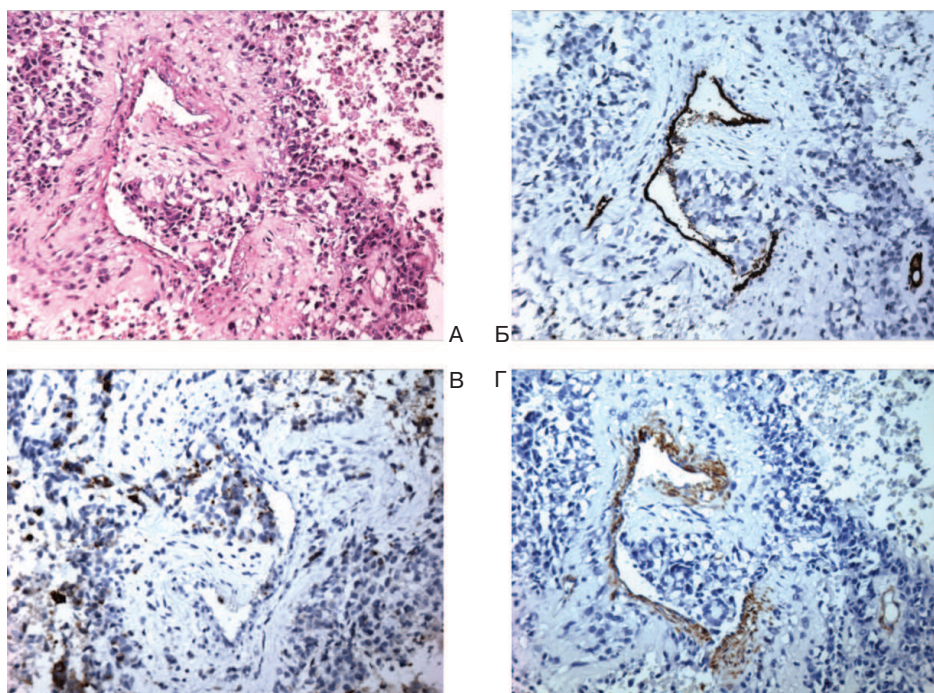


Рис. 1. Плоскоклеточный рак с микроинвазией опухоли в просвет кровеносного сосуда: А – окраска гематоксилином и эозином; × 400; Б – ИГХ-исследование с CD34; × 400; В – ИГХ-исследование с pan CK (клон AE1/AE3); × 400; Г – ИГХ-исследование с Muscle Actin; × 400

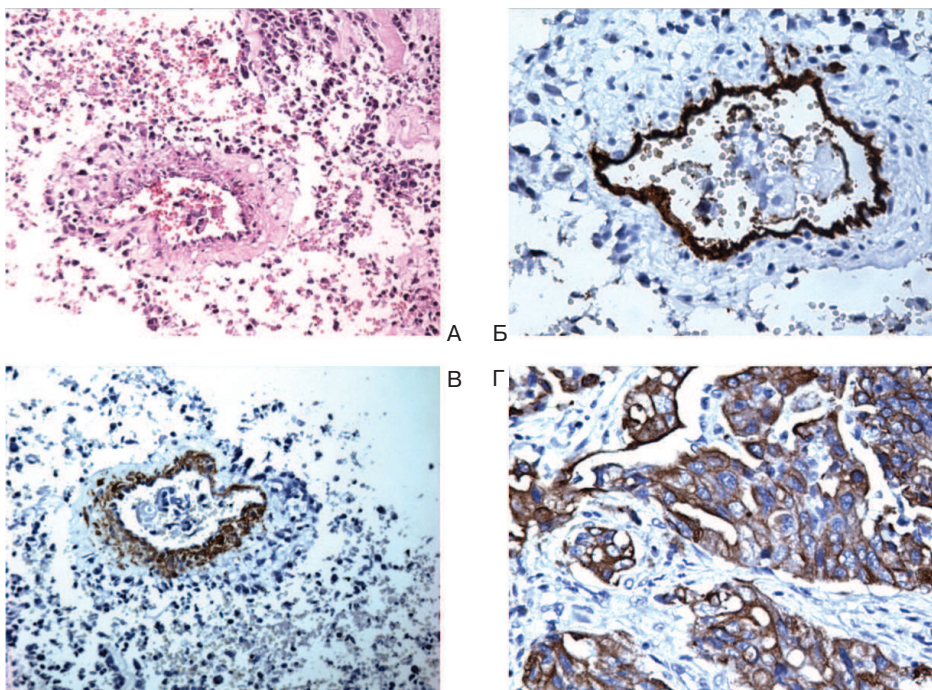


Рис. 2. Ацинарная умеренно-дифференцированная аденокарцинома:
 А — окраска гематоксилином и эозином; × 400;
 Б — ИГХ-исследование с CD34; × 400;
 В — ИГХ-исследование с *Muscle Actin*; × 400;
 Г — ИГХ-исследование с *pan CK* (клон AE1/AE3); × 400

Опухолевая сосудистая инвазия была обнаружена у > 50 % больных с IV стадией НМРЛ, тогда как для этой стадии ее наличие и связанный с этим риск гематогенного метастазирования считаются гораздо менее вероятными. Инвазия микроциркуляторного русла определялась у 2/3 пациентов со II стадией заболевания, а при IIIA стадии она встречалась уже у 5 из 6 больных (табл. 2).

При плоскоклеточном РЛ наличие сосудистой инвазии и отсутствие таковой выявлялись практически с одинаковой частотой, а при аденокарциноме она обнаруживалась в 2 раза чаще (табл. 3), что соответствует клиническим наблюдениям о ее склонности к гематогенному метастазированию.

Медиана выживаемости пациентов с НМРЛ с опухолевой инвазией микроциркуляторного русла

Таблица 2

Выявление инвазии в сосуды микроциркуляторного русла в зависимости от стадии рака

Стадия рака	Инвазия, n (%)	
	есть	нет
IV	18 (30,0)	17 (28,3)
II	12 (20,0)	7 (11,7)
IIIA	5 (8,3)	1 (1,7)
Всего	35 (58,3)	25 (41,7)

Таблица 3

Выявление инвазии в сосуды микроциркуляторного русла в зависимости от гистологического варианта рака

Гистологический вариант	Инвазия, n (%)	
	есть	нет
Плоскоклеточный рак	12 (20)	14 (23,3)
Аденокарцинома	23 (38,3)	11 (18,3)

составила 15 мес., а без инвазии — 23 мес. Одногодичная DFS среди пациентов с микроинвазией составила 76 %, а без опухолевой микроинвазии — 91 %. 2-летняя DFS составила 13 % и 37 % соответственно (рис. 3).

Таким образом, в первичной опухоли при инвазии в кровеносные сосуды статистически значимо ($p = 0,0184$) на 24 % ухудшаются результаты лечения.

В группе пациентов с IV стадией болезни изучена DFS, при которой по существующим стандартам дополнительное лечение, ввиду отсутствия поражения регионарных ЛУ, не показано и не проводилось (рис. 4).

Медиана выживаемости при существующих сроках наблюдения в подгруппе без микроинвазии не достигнута, а при ее наличии составила 26 мес. Одногодичная DFS в подгруппе с опухолевой микроинвазией составила 86 %, в подгруппе без микроинвазии — 100 %; 2-летняя DFS в подгруппе с ми-

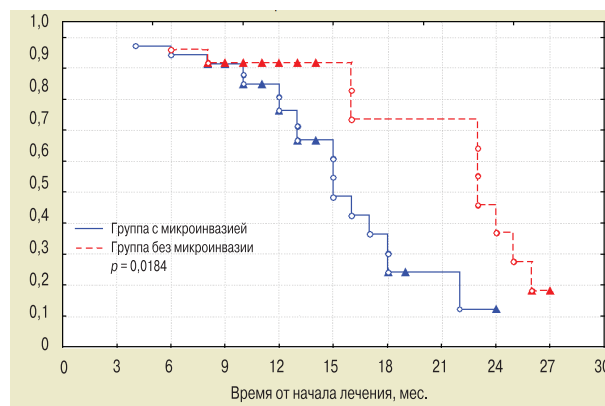


Рис. 3. Показатели DFS в группе больных: с микроинвазией опухоли в сосуды ($n = 35$) и без таковой ($n = 25$)

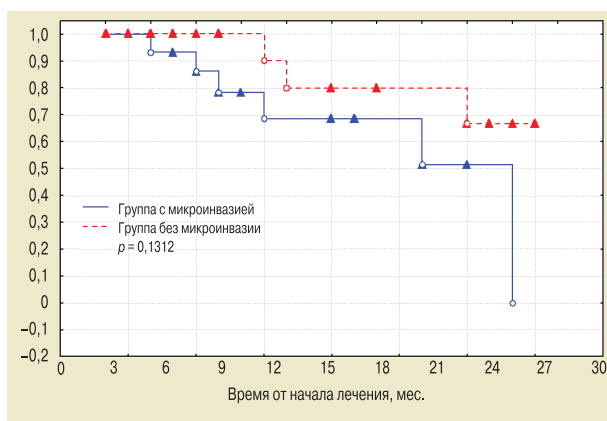


Рис. 4. Показатели DFS группы больных с IV стадией НМРЛ: с микроинвазией опухоли в сосуды ($n = 18$) и без таковой ($n = 17$)

кроинвазией составила 51 %, в подгруппе без микроинвазии достигла 66 % ($p = 0,1312$).

Обсуждение

В литературе имеются указания, что при сосудистой микроинвазии ухудшается прогноз РЛ. В результате исследования установлено, что при применении ИГХ-методик (CD34, клон AE1 / AE3, мышечный актин) повышается выявляемость микрососудистой инвазии. Наиболее информативной оказалась окраска с антителами vs CD34.

Присутствие в первичном очаге раковой опухоли инвазии в кровеносные сосуды оказалось статистически значимым (\log -rank test: $p = 0,0184$). Одногодичная DFS среди пациентов с микроинвазией составила 76 %, а без таковой – 91 %. Двухлетняя DFS составила 13 % и 37 % соответственно.

DFS в группе больных с IV стадией НМРЛ с наличием и отсутствием микрососудистой инвазии была недостоверна, но это обстоятельство может быть связано, с одной стороны, с небольшим числом больных, с другой – недостаточным временем наблюдения. Последнее диктует необходимость продолжения исследований в данной области.

Заключение

Микрососудистая инвазия является важным прогностическим признаком злокачественных опухолей, в т. ч. НМРЛ. В результате исследования показано, что при применении ИГХ-методик повышается выявляемость микрососудистой инвазии в сосуды микроциркуляторного русла при НМРЛ. Наиболее информативным показателем является иммунореактивность с маркером CD34.

При инвазии сосудов микроциркуляторного русла достоверно на 24 % повышается риск рецидива НМРЛ при I–IIA стадии ($p = 0,0184$). Данное положение может служить основанием для проведения адъювантного лечения даже при IV стадии рака.

Литература / References

1. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГУ "МНИОИ им. П.А.Герцена" Росздрава; 2010. / Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignancies in Russia in 2008 (Morbidity and Mortality). [Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2008 godu (zabolevaemost' i smertnost')]. Moscow: Moscow Scientific and Research Oncological P.A.Gertsen's Institute; 2010 (in Russian).
2. Трахтенберг А.Х., Чиссов В.И. Рак легкого: руководство, атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009. / Trakhtenberg A.Kh., Chissov V.I. Lung cancer: handbook, atlas. [Rak legkogo: rukovodstvo, atlas]. Moscow: GEOTAR-Media; 2009 (in Russian).
3. Лактионов К.К., Давыдов М.И., Полоцкий Б.Е. и др. Прогностические и предсказывающие факторы у больных немелкоклеточным раком легкого. Практическая онкология 2006; 7 (3): 145–153. / Laktionov K.K., Davydov M.I., Polotskiy B.E. et al. Prognostic and predictive factors in patients with non-small cell lung carcinoma. *Prakticheskaya onkologiya* 2006; 7 (3): 145–153 (in Russian).
4. Gabor S., Renner H., Popper H. et al. Invasion of blood vessels as significant prognostic factor in radically resected T1-3N0M0 non-small-cell lung cancer. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2004; 25 (3): 439–442.
5. Poncelet A.J., Cornet J., Coulon C. et al. Intra-tumoral vascular or perineural invasion as prognostic factors for long-term survival in early stage non-small cell lung carcinoma. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2008; 33 (5): 799–804.
6. Tsuchiya T., Akamine S., Muraoka M. et al. Stage IA non-small cell lung cancer: Vessel invasion is a poor prognostic factor and a new target of adjuvant chemotherapy. *Lung Cancer* 2007; 56 (3): 341–348.
7. Зинькович С.А., Непомнящая Е.М., Анистратов П.А. и др. Опухолевая сосудистая инвазия как прогностический фактор у больных операбельным немелкоклеточным раком легкого. В кн.: Материалы IV Всероссийского съезда патологоанатомов. Белгород; 2013: 24–244. / Zin'kovich S.A., Nepomnyashchaya E.M., Anistratov P.A. et al. Vascular invasion as a prognostic factor in patients with operable non-small cell lung carcinoma. In: *Materials of the IV Russian meeting of pathologists*. Belgorod; 2013: 242–244 (in Russian).

Информация об авторах

Зинькович Сергей Анатольевич – д. м. н., профессор, руководитель отдела клинической онкологии ФГБУ "РНИОИ" Минздрава России; тел.: (863) 200-32-45; e-mail: s.zinkovich@mail.ru
 Непомнящая Евгения Марковна – д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории ИФТ опухолей ФГБУ "РНИОИ" Минздрава России; тел.: (863) 291-48-11; e-mail: rniioi-pathology@yandex.ru
 Лазутин Юрий Николаевич – к. м. н., ст. научный сотрудник торакального отделения ФГБУ "РНИОИ" Минздрава России; тел.: (863) 291-47-29; e-mail: onko-sekretar@mail.ru
 Анистратов Павел Александрович – к. м. н., врач торакального отделения ФГБУ "РНИОИ" Минздрава России; тел.: (863) 291-47-29; e-mail: onko-sekretar@mail.ru
 Лаптева Татьяна Олеговна – врач патологоанатомического отделения ФГБУ "РНИОИ" Минздрава России; тел.: (863) 291-48-11; e-mail: onko-sekretar@mail.ru
 Тарнопольская Ольга Владимировна – к. ф-м. н., ведущий научный сотрудник биохимической лаборатории ФГБУ "РНИОИ" Минздрава России; тел.: (863) 300-30-05; e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Поступила 03.03.14
 © Коллектив авторов, 2014
 УДК 616.24-006.6-037